第41卷 增刊
1998年9月
昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA
Vol. 41, Suppl.
Sept., 1998

苜蓿切叶蜂滞育的诱导因素研究*

李瑞军 陈合明 贾 涛**
(中国农业大学昆虫学系，北京 100094)

摘要 苜蓿切叶蜂 *Megachile rotundata* (F.) 预蛹的滞育主要受光周期和温度的影响。雌蜂感受光周期的变化是决定子代预蛹是否进入滞育的一个主要因素；当代的幼期，特别是高龄幼虫（约3龄）到预蛹这一阶段所感受的温度变化，对预蛹滞育有很大的影响，此期如果环境温度低于 (21.59±1.03)℃，可有超过50%的个体进入滞育。此外，放蜂地区的纬度及蜂的代次对预蛹的滞育亦有重要的影响。

关键词 苜蓿切叶蜂，滞育，诱导因素

苜蓿切叶蜂 *Megachile rotundata* (F.) 是苜蓿最有效的授粉昆虫之一，经过不断的繁殖和驯化，现已商业化并得到大规模应用，成为美国西北部3/4的州和相邻的加拿大西南部紫花苜蓿的主要授粉蜂种。使用该蜂授粉，不仅可以使苜蓿种子的产量成倍增长，还可改善种子品质[1,2]。该蜂现已被紫花苜蓿生产者广泛引种到世界各地。我国亦于80年代末由当时的北京农业大学从加拿大引进了该蜂，在应用研究和推广方面都取得了重要的成果[3,4]。在生产中所遇到的难题之一是该蜂的滞育问题。苜蓿切叶蜂是以滞育预蛹越冬的多化性昆虫，在不同纬度地区一年可以发生一代以上，但苜蓿种子生产者只需要一个代次的蜂为其授粉。因此，如何提高 F_1 代的滞育率，减少 F_2 代的发生量，是世界各地的生产者与研究人员共同关心的问题。在诱导滞育的条件及接受刺激的敏感虫态方面存在极大的分歧。Krunic 等（1972）认为 F_2 代蜂的产生是由其母体决定的[5]；Parker 等（1982）认为预蛹的滞育率与光周期或温度无恒定关系，可能是由上一代雌蜂决定的[6]；Tepedino 等（1986）认为低温处理幼蜂不但对增加滞育率无效，反而会增加死亡率和减小个体的重量[7]；Richards（1984）认为将小于3龄的幼虫放在20℃下处理10～14 d能够诱导滞育[8]，但未发表有说服力的资料。为此，作者对苜蓿切叶蜂的滞育进行了较详细的研究，已有明确的结论，在理论与实践上都有重要意义。现将结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 试虫

* “八·五”农业部重点科研项目
** 现在陕西省棉花所工作
1997-06-26 收稿，1998-01-25 收修改稿

试虫为本研究室从国外引进并经多年繁殖的单一商业种群，经5℃冰箱中冬贮后，于5月初取出蜂茧，在30℃、70%RH左右的条件下孵育，约21 d后羽化出成蜂，将成蜂带到初花期的紫花苜蓿种子田释放，逐日从田间取卵（新的完整巢室）带回室内研究。

1.2 温度与光照控制

在广东省医疗器械厂生产的LRH-250-G光照培养箱中孵育试虫以实现温、光控制。用黑、红棉布做成双层布袋，使用时将这种布袋三个套叠在一起，将试虫放入其中实现黑暗控制。

1.3 幼期处理对滞育的影响

由于分龄上的困难[9]和出于工作量的考虑，只将预蛹前的虫期分为卵～低龄幼虫期（约2龄末）、高龄幼虫（约3龄）～预蛹期和卵～预蛹期三个时期，以25℃、23℃、20℃、17℃ 4个温度和L:D为18:6、16:8、14:10、12:12这4种光周期组成4×4的全设计，研究温度、光周期作用于滞育前虫态对预蛹滞育诱导的影响；此外，对卵～预蛹阶段，在25℃和20℃下补充L:D为24:0、8:16、4:20及0:24光周期的处理，在L:D为16:8及12:12下补充28℃、35℃的处理，以观察在全部光周期下和整个适温区内滞育率的变化；以28℃，L:D为16:8为非滞育条件饲养滞育前虫态作为非处理阶段；每处理重复3次，每个重复为20粒卵（巢室）。当预蛹期超过非滞育个体平均预蛹期三倍以上时，定为滞育，计算滞育率。

1.4 蛹期处理对后代滞育的影响

将冬贮的蜂茧在30℃、15 h光照及70%RH左右的条件下孵育，当开始化蛹时，将其分为三份，一份继续在原条件下孵育，一份转入35℃、18 h光照下孵育，另一份转入20℃、10 h光照条件下孵育，相对湿度均保持在70%左右，当蜂羽化出成蜂时，分别拿到不同的紫花苜蓿田块放蜂。产卵后，将其巢室分别取回，放在28℃、16 h光照的培养箱内培养，使其继续发育，至可判断是否滞育时为止。设4重复，每重复50粒卵。

1.5 成虫期感受自然界温度和光照变化对后代滞育的影响

苜蓿切叶蜂雌蜂羽化后数小时内即可完成交配，当天就可产卵，成虫期不必进一步划分，又因仅引进一个商业种群，可不考虑种群内的差异，拟用以下两个试验初步研究环境条件在此期的影响。

北京夏季试验：将同一小群的蜂单独放养，从6月8日到7月2日每天收一次卵，放在28℃、16 h光照培养箱中培养，使其继续发育，至可判断是否滞育时为止。这样其滞育率的差异就只能是雌成虫产卵前所感受环境条件的差异而引起的。

白城秋季试验：在吉林白城牧草良种站的苜蓿田，对一固定的蜂箱，每天标记可明确判定为当日所封的巢孔，同时记录田间温度。蜂茧逐日回收，并于室内25℃下后熟，检查滞育率。

1.6 不同的放蜂地区、代次对后代滞育的影响

把同一批蜂茧孵育的蜂，分别在山东无棣县（5月至6月）、中国医学科学院北京药用植物研究所（5月至6月）和吉林白城（7月至8月上旬）进行当年第一次释放，其后代分称无棣 F_1、北京 F_1、白城 F_1；将北京 F_1 拿到吉林白城再次放蜂（7月至8月上旬），所产生的后代称为白城 F_2，将上述三地四批蜂茧分别回收，抽样检查其滞育率，每样150茧，重复3次。

2 结果与分析

2.1 卵～低龄幼虫期温度和光照对苜蓿切叶蜂滞育的影响

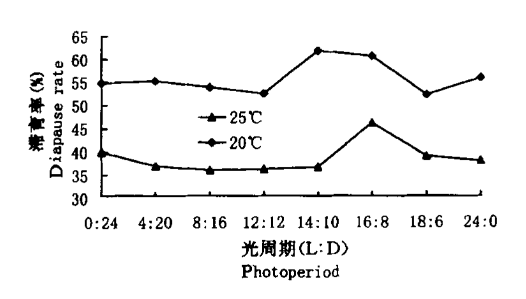
统计卵～低龄幼虫期各处理的滞育率（数据用SAS及excel软件处理），结果均没能达到50%的滞育率。对数据进行方差分析，结果表明无论是总处理效果（$F_{(15,32)}=0.66<F_{(0.05)}=2.00$）、温度（$F_{(3,32)}=0.17<F_{(0.05)}=2.90$）或光照（$F_{(3,32)}=1.39<F_{(0.05)}=2.90$）的单独效果还是光照与温度的互作（$F_{(9,32)}=0.58<F_{(0.05)}=2.19$），均不能达到 $\alpha=0.05$ 水平的差异显著性；将各处理的平均滞育率列于表1，并做Duncan测验，结果各温度、光照的平均滞育率间均无显著差异，这表明仅在该阶段处理，温度、光照对诱导滞育均无显著效果，亦表明苜蓿切叶蜂的敏感虫态不在这一时期或说不仅仅在这一时期。

2.2 卵～预蛹期温度和光照对苜蓿切叶蜂滞育的影响

统计卵～预蛹期阶段4×4试验的结果，发现试验的总处理效果极显著（$F_{(15,32)}=33.38>F_{(0.01)}=2.66$），进一步地分解表明，只有温度效应是极显著的（$F_{(3,32)}=163.90>F_{(0.01)}=4.46$），而光照（$F_{(3,32)}=0.71<F_{(0.05)}=2.90$）及光照与温度互作（$F_{(9,32)}=0.76<F_{(0.05)}=2.19$）效果都是不显著的。将各处理的平均滞育率列于表2，并做Duncan测验，则发现四个光照处理间无明显的差异；在各温度的处理中，17℃下的滞育率与20℃、23℃、25℃下的滞育率间有极显著的差异，20℃下的滞育率与23℃、25℃下的滞育率间有显著的差异，而23℃与25℃之间的滞育则无明显差异。表明在此期间低温可明显诱导滞育的产生。

将在25℃和20℃、各种光周期下对苜蓿切叶蜂诱导滞育的结果以其平均滞育率绘成图1，虽然14 h和16 h光照滞育率较高，但并无明显的规律性。25℃下 $F_{(7,16)}=0.43$，20℃下 $F_{(7,16)}=0.48$，均小于 $F_{(0.05)}=2.66$，表明差异不显著，说明在幼期光周期对诱导滞育无显著影响。

将16 h和12 h光照、各种温度条件下，对苜蓿切叶蜂滞育的诱导结果以平均滞育率作图2。由图2可以发现两种光周期下，温度对诱导滞育的作用都是很明显的，只在低温端滞育率高，随温度的上升，滞育率下降，但达23℃以上后，变得平稳，35℃的高温亦没能引起高的滞育率。进一步分析，可知16 h下 $F_{(5,12)}=56.30$，12 h下 $F_{(5,12)}=62.37$，均大于 $F_{(0.01)}=5.06$，表明两种光周期下温度的效应都是极显著的。Duncan测验结果表明在两种光周期下17℃和20℃与其它各温度下的滞育率均有极显著的差异，



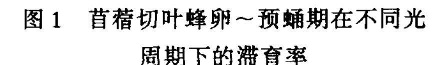

图 1　苜蓿切叶蜂卵～预蛹期在不同光周期下的滞育率

Fig. 1　The diapause rate of *M. rotundata* treated at egg～prepupa stage with different photoperiods

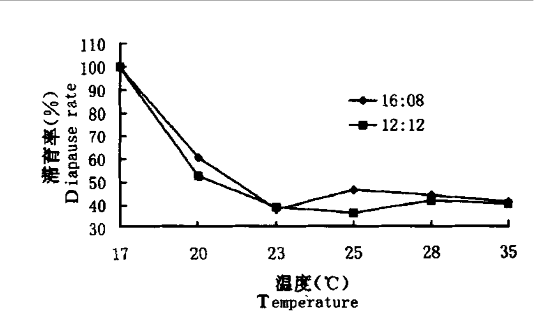


图 2　苜蓿切叶蜂卵～预蛹期在不同温度下的滞育率

Fig. 2　The diapause rate of *M. rotundata* treated at egg～prepupa stage with different temperatures

而23℃、25℃、28℃、35℃之间则无显著差异。

2.3　高龄幼虫～预蛹期温度与光照对苜蓿切叶蜂滞育的影响

高龄幼虫～预蛹期是滞育前全部生长期的后半部分，试验结果表明总处理效果极显著（$F_{(15,32)}=32.14>F_{(0.01)}=2.66$），但这是由温度效应极显著（$F_{(3,32)}=156.25>F_{(0.01)}=4.46$）造成的，光周期（$F_{(3,32)}=1.87<F_{(0.05)}=2.90$）及光周期与温度互作（$F_{(9,32)}=0.86<F_{(0.05)}=2.19$）的效果并不明显。将各处理的平均滞育率列于表 3，并

表 1　苜蓿切叶蜂卵～低龄幼虫期不同温度、光周期组合处理下的滞育率（%）

Table 1　The diapause rate of *M. rotundata* treated at egg～2nd instar larva stage with different temperatures and photoperiods

温度①(℃)	光周期(L:D)②				平均滞育率③(%)
	18:6	16:8	14:10	12:12	
25	36.01	31.85	38.42	27.62	33.48 a
23	39.40	36.46	39.23	40.60	38.92 a
20	28.31	35.95	34.63	32.50	32.85 a
17	37.36	32.70	30.03	32.78	33.22 a
平均滞育率(%)③	35.27 a	34.24 a	35.58 a	33.38 a	

注：不同的大、小写英文字母在 Duncan 测验中表示差异极显著（$\alpha=0.01$）和差异显著（$\alpha=0.05$）。

①temperature，②photoperiod，③average diapause rate，表 2～表 4 同此

表 2　苜蓿切叶蜂卵～预蛹期不同温度、光周期组合处理下的滞育率（%）

Table 2　The diapause rate of *M. rotundata* treated at egg～prepupa stage with different temperatures and photoperiods

温度(℃)	光周期(L:D)				平均滞育率(%)
	18:6	16:8	14:10	12:12	
25	38.94	46.06	42.04	36.20	40.81 A
23	44.83	37.93	42.78	38.82	41.09 A
20	52.04	60.48	61.67	52.38	56.64 B
17	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00 C
平均滞育率(%)	58.95 a	61.12 a	61.62 a	56.85 a	

对各光周期和温度下的平均滞育率做 Duncan 测验，结果显示各光周期间无显著差异；在各温度间，17℃与20℃之间及17℃、20℃与其它温度之间均存在极显著的差异，23℃与25℃之间则无显著的差异。当温度降低到20℃时滞育率已经超过50%，这表明滞育的临界温度就在20～23℃；经数据拟合，以残差平方和最小为依据，得幂函数 $y = ax^b$ 形式最适，两边取常用对数后拟合结果为：$\lg y = 5.3975 - 2.7719 \lg x \pm 0.0314$，其中 y 为平均滞育率（%），x 为诱导温度（17～25℃），方程的 $R = 0.9921$、$F = 125.71 > F_{(0.01)} = 98.49$，表明相关及拟合均极显著。由模型解出临界温度为 (21.59 ± 1.03)℃。

表3 苜蓿切叶蜂高龄幼虫～预蛹期不同温度、光周期组合处理下的滞育率（%）

Table 3 The diapause rate of *M. rotundata* treated at 3nd instar larva～prepupa stage with different temperatures and photoperiods

温度(℃)	光周期(L:D) 18:6	16:8	14:10	12:12	平均滞育率(%)
25	29.73	27.69	40.87	43.85	35.54 A
23	41.25	37.75	38.61	41.34	39.74 A
20	56.73	57.00	58.25	68.75	60.18 B
17	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00 C
平均滞育率(%)	56.93 a	55.61 a	59.43 a	63.48 a	

2.4 蛹期处理对后代滞育率的影响

将蛹期试验结果整理于表4，$F_{(2,9)} = 16.82 > F_{(0.01)} = 8.02$，差异极显著，表明蛹期处理对子代滞育有明显的影响。对其平均滞育率做 Duncan 测验，结果只有低温（20℃）短光照（12 h）的滞育率与其它处理间差异极显著，高温（35℃）长光照（18 h）处理的滞育率与生产条件下（30℃、15 h）的滞育率间无显著差异，表明蛹期的环境条件对其后代滞育是有明显影响的，但滞育率均未超过50%。

表4 苜蓿切叶蜂蛹期在不同温度、光周期组合处理后其后代的滞育率（%）

Table 4 The diapause rate of *M. rotundata*'s offspring treated at pupa stage with different temperatures and photoperiods

温度(℃)	光周期(L:D)	滞育率(diapause rate) I	II	III	IV	平均滞育率(%)
35	18:6	21.95	23.26	29.41	20.41	23.76 A
29	15:9	22.86	20.14	28.21	27.39	24.65 A
20	10:14	7.32	16.33	5.26	7.50	9.10 B

2.5 成虫期感受自然界温度和光照变化对后代滞育的影响

将北京夏季试验的结果整理于表5，经分析可知 $F_{(5,12)} = 12.59 > F_{(0.01)} = 5.06$，说明差异极为显著，这就表明成虫感受到环境条件的变化后会对其后代滞育率有极显著的影响。Duncan 测验的结果明确指出6月22日是一个分界线，其后所产卵的滞育率比6月22日以前的明显地高，而6月22日、27日及7月2日间则无明显差别的，6月8日、12日、17日间也无明显差别。为寻找造成这种差异的原因，分析了田间观测的温度及北京的理论日照长度（表5），从中可以看出，平均温度和平均温差的变化并无一

定的规律；但日照长度的变化却有明显的规律，6 月 22 日前，日照是逐日延长的，而 6 月 22 日以后日照时间则逐日变短，6 月 22 日是一个转折点，滞育率亦正是从这一天出现显著差异，表明日照时间的变化是成虫决定其后代滞育与否的主要原因。所有的滞育率均没有达到 50％以上，可能是因为每日光照变短不到 1 分钟，差异太小的原因。

表 5　北京地区不同产卵日期苜蓿切叶蜂的滞育率（％）

Table 5　The diapause rate of *M. rotundata* from eggs laid in different days　(Beijing)

产卵日期① （日/月）	日照长度② (h/(min·s))	平均气温③ (℃)	温 差④ (℃)	平均滞育率⑤ (％)
8/6	14/(45·15)	27.05	16.60	15.41 a
12/6	14/(47·57)	27.00	14.44	16.39 a
17/6	14/(50·02)	29.18	15.30	17.39 a
22/6	14/(50·39)	27.14	11.68	30.87 b
27/6	14/(49·49)	26.40	12.53	37.13 b
2/7*	14/(47·31)	29.27	5.83	40.87 b

* 北京 7 月 2 日多云故温差变小。①Oviposition date，②daylength，③average temperature，④difference in temperature，⑤average diapause rate，表 6 同此

在吉林省白城市的自然条件下，不同日期所产的卵，在滞育上的差异情况列于表 6。不同日期所产卵的滞育率是有极显著差异的（$F_{(5,12)}=448.61>F_{(0.01)}=5.06$），从 Duncan 测验的结果中看出，7 月 17 日和以后产的卵，其滞育率有极显著的差异，7 月 22 日产的卵与其前、后所产的卵间亦有极显著的差异，7 月 27 日及以后所产卵的滞育率间则无显著差异，可认为已全部滞育。将平均滞育率，日照长度，平均气温，平均日温差做相关分析，结果列于表 7。由表 7 看出，平均滞育率只与日照长度呈显著的负相关，进一步说明光照是诱导滞育的重要因素；同时滞育率与平均气温也有比较高的相关性，显示温度对滞育亦有贡献。分析白城滞育率的增长趋势，滞育率超过 50％的日期在 7 月 19 日前后，其对应的日照长度为 15 h 07 min（通过 Logistic 曲线拟和求得）。

2.6　不同的放蜂地区、代次对后代滞育的影响

将三地四个批次蜂的滞育率列于表 8。其 $F_{(3,8)}=2557.49>F_{(0.01)}=7.59$，达极显著水平；Duncan 测验结果表明北京药植所的 F_1 与山东无棣县的 F_1 间滞育率无显著

表 6　白城秋季不同产卵日期苜蓿切叶蜂的滞育率（％）

Table 6　The diapause rate of *M. rotundata* from eggs laid in different days　(Baicheng)

产卵日期 （日/月）	日照长度 (h/(min·s))	平均气温 (℃)	温 差 (℃)	平均滞育率 (％)
17/7	15/(10·12)	26.22	8.20	35.28 A
22/7	15/(00·49)	27.72	6.40	73.11 B
27/7	14/(50·13)	26.06	7.84	97.40 C
1/8	14/(38·33)	23.67	7.13	99.44 C
6/8	14/(25·57)	24.56	6.50	99.80 C
11/8	14/(12·35)	23.46	8.34	100.00 C
16/8	13/(58·35)	22.83	6.67	100.00 C

表7 白城地区秋季苜蓿切叶蜂的滞育率与气象因素的相关分析

Table 7 Correlation analysis of diapause rate of *M. rotundata* and climatic factors in Baicheng area

	平均滞育率①	日照长度②	平均气温③	温差④
平均滞育率①	1	-0.7562 *	-0.6108	-0.2922
日照长度②		1	0.8741 * *	0.1734
平均气温③			1	-0.0461
温差④ difference in temperature				1

* 表示相关显著， * * 表示相关极显著；①average diapause rate, ②daylength, ③average temperature, ④difference in temperature

差异，二者与在白城的 F_1、F_2 间，却都有极显著差异，而白城的两群蜂间滞育率亦有显著差异。这说明该蜂在不同地区间及其不同代次间滞育率是有差异的。

表8 不同地区、代次苜蓿切叶蜂的滞育率（%）

Table 8 The diapause rate of *M. rotundata* in different areas and generations

地点 Area	代次 Generation	滞育率（%）Diapause rate			平均滞育率 Average diapause rate （%）
		I	II	III	
白城 Baicheng	F_2	85.23	87.93	86.64	86.60 a A
白城 Baicheng	F_1	80.68	84.00	82.49	82.39 b A
无棣 Wudi	F_1	3.45	5.45	6.63	5.18 c B
北京 Beijing	F_1	3.80	5.10	1.73	3.54 c B

3 讨论

滞育是昆虫在时间上适应不利环境条件而采取的一种策略，苜蓿切叶蜂适应环境策略的多样性与复杂性使其能够广泛分布于世界各地。但该蜂在各地区的代数不同，在美国西北部各州多发生2代，加拿大的西南部，则大多只发生1代[10]。我国引进该蜂后，亦发生此种现象，在北京可完成3代，而在吉林的白城地区，一般发生1代，第2代发生的比例极少[11]。如何提高滞育率，尽量减少第2代的发生，在商业生产中极为重要，因此对滞育问题的研究备受重视，但难度较大，结论难于统一[12]。

本项研究虽然证实了 Richards 关于通过低温处理幼虫可增加滞育的观点[8]，但是本研究结果发现，低温处理从3龄后开始与从卵期开始，诱导滞育的效果相近，而仅在卵～2龄进行处理的效果并不显著，表明敏感虫期应在高龄幼虫至预蛹期；同时亦发现，低温处理幼虫虽可提高滞育率，但也使死亡率增加，当滞育率超过50%时（如20℃下），死亡率也会超过50%，且温度越低、处理龄期越低，死亡率越高。通过进一步对蛹期、成虫期及放蜂地点的研究，明确苜蓿切叶蜂的滞育应是受多因素作用的，特别是成虫期对子代滞育有着显著的影响，这种影响显然还有待深入研究。

本研究显示，在生产上，为提高滞育率，仅靠低温诱导的方法，是难以奏效的，在白城地区，适当推迟放蜂日期（如7月19日以后）不失为一种好的方案，而低温诱导的双重效应（提高滞育率亦增加死亡率），在秋后蜂茧后熟的温度选择上似应审慎些。

参 考 文 献

1 Kloslermeyer E C . Biology of the alfalfa leafcutter bee. Proceedings of the 1st International Symposium on Leafcutter Bee Management, 1982 , 10～19
2 Richards K W, Krunic M D. Introduction of alfalfa leafcutter bee to pollinate alfalfa in Yugoslavia. The Entomologist, 1990, 109 (3): 130～135
3 Zhang Qingwen, Richards K W *et al*. Introduction of alfalfa leafcutter bee (*Megachile rotundata* (F.)) to pollinate alfalfa in China. The Entomologist, 1994, 113 (1): 63～69
4 陈合明，李瑞军，张青文等．苜蓿切叶蜂一年异地两次为苜蓿授粉的研究．草地学报，1995，3 (4)：289～296
5 Krunic M D, Hinks C F. The effects of temperature and temperature pretreatment of diapause on the synchronization of adult emergence in *Megachile rotundata*. Can. Entomol., 1972, 104 (6): 889～893
6 Parker F D *et al*. Maternal influence on diapause in the alfalfa leafcutter bee. Ann. Entomol. Soc. Am, 1982, 75: 407～410
7 Tepedino V J, Parker F D. Effect of rearing temperature on mortality, second generation emergence, and size of adult in *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae), J. Econ. Entomol., 1986, 79: 974～977
8 Richards K W . Comparison of tumblers used to remove debris from cells of the alfalfa leafeutter bee, *Megachile rotundata* (Hym: Megachilidae), Can. Entomol., 1984, 116: 719～723
9 Whitfield G H *et al*. Number of instars of larvae of the alfalfa leafcutter bee, *Megachile rotundata* (F.) (Hymenoptera: Megachilidae). Can. Entomol. 1987, 119: 859～865
10 Rank G H, Rank F P . Diapause intensity in a French univoltine and Saskatchewan commercial strain of *Megachile rotundata*. Can. Entomol., 1989, 121: 141～148
11 李少南．授粉季节的气候因素对苜蓿切叶蜂二代发生率的影响．昆虫知识，1994，31 (1)：38～40
12 Whitfield G H, Richards K W . Temperature-dependent development and survival of immature stages of the alfalfa leafcutter bee, *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae). Apidologie, 1992, 23: 11 ～23

STUDY ON INDUCING FACTORS OF DIAPAUSE OF *MEGACHILE ROTUNDATA* (F.)

Li Ruijun　Chen Heming　Jia Tao
(Department of Entomology, China Agricultural University , Beijing　100094)

Abstract　Diapause of prepupae of the alfalfa leafcutter bee, *Megachile rotundata* (F.) is mainly controlled by both photoperiod and temperature. A main factor for female is the photoperiodical variation that decides whether progeny prepupae will enter diapause or not. For immature stages, especially from late instar (about third instar) to prepupae, temperature variation has a greater effect on prepupa diapause. During this stage, if the temperature is below (21.09 ± 1.03)℃, more than 50 percent prepupae will enter diapause. In addition, the latitude of the area bees being released in and the generation of the bee also have an important influence on prepupae's diapause.

Key words　*Megachile rotundata* (F.), diapause, inducing factors